Lane Medical Library

Aus dem physiologischen Institut der Universität München
Vorstand Geheimrat Prof. Dr. Frank — Referent Prof. Dr. Hahn

Die Rolle der Phosphagene bei Muskeltätigkeit

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Otto Ehmann
aus Klein-Eislingen

☆

München 1931

Dillingen a. Donau
Druck: Schwäbische Verlagsdruckerei G.m.b.H
1931.

Aus dem physiologischen Institut der Universität München
Vorstand Geheimrat Prof. Dr. Frank — Referent Prof. Dr. Hahn

Die Rolle der Phosphagene bei Muskeltätigkeit

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Otto Ehmann
aus Klein-Eislingen

☆

München 1931

Dillingen a. Donau
Druck: Schwäbische Verlagsdruckerei G.m.b.H
1931.

Gedruckt mit Genehmigung der med.
Fakultät der Universität München

Dem Andenken meiner treuen Mutter!

Literatur-Verzeichnis

Dulière W. and H. V. Horton: The reversible loss of excitability in isolated amphibian voluntary muscle, J. of Physiol. 67, 1929.

Eggleton P. and G. P. Eggleton: The phisiological significance of „phosphagen", J. of Physiol. 63, 1927.

Eggleton P. and G. P. Eggleton: A method of estimating Phosphagen and some other Phosphorus compounds in muscle tissue, J. of Physiol. 68, 1928.

Lapique L.: L'exitabilité en fonction du temps. La Chronaxie, sa signification et sa mesure. Les problèmes biologiques, publ. par les Presses Universitaires de France, Paris, 1926.

Meyerhof O.: Ueber die Bedeutung der Guanidinophosphorsäuren (Phasphagene) für die Muskeltätigkeit, Naturwiss. 17, 1929.

Meyerhof O.: Die chem. Vorgänge im Muskel und ihr Zusammenhang mit Arbeitsleistung und Wärmebildung, Verl. J. Springer, 1930.

Meyerhof u. Lohmann: Ueber die natürlichen Guanidinophosphorsäuren (Phosphogene) I
1) Das physiologische Verhalten der Phosphagene, Bioch. Zeitschrift 196, 1928.

Meyerhof u. Lohmann: Ueber die natürlichen Guanidinophosphorsäuren (Phosphagene) II
2) die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Guanidinophosphorsäuren, Bioch. Zeitschrift 196, 1928.

Meyerhof u. Lohmann: Ueber die natürlichen Guanidinophosphorsäuren (Phosphagene) III
3) Ueber den Ursprung der Kontraktionswärme, Naturwiss. 15, 1927.

Nachmansohn D.: Ueber den Zerfall der Kreatinphosphorsäure im Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels, II., Bioch. Zeitschr. 208, 1929.

Nachmansohn D.: Ueber den Zerfall der Kreatinphosphorsäure im Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels I. Bioch. Zeitschrift 196, 1928.

Nachmansohn D.: Ueber den Zerfall der Kreatinphosphorsäure im Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels, III. Bioch. Zeitschrift 213, 1929.

Nachmansohn D.: Ueber den Zusammenhang des Kreatinphosphorsäurezerfalls mit Muskelchronaxie und Kontraktionsgeschwindigkeit, Bioch. Zeitschrift 213, 1929.

Rotschild P.: Diffusionsversuche an den phosphorsäurehaltigen Verbindungen des Muskels, Bioch. Zeitschr. 213, 1929.

Stella G.: The concentration an Diffusion of Inorganic Phosphate in Living Muscle, J. of Physiol. 66, 1928.

Durch viele Tatsachen ist es sichergestellt, daß bei der Muskeltätigkeit die anaerobe Spaltung der Kohlehydrate in Milchsäure und der Umsatz der letzteren mit Muskelprotein den Hauptteil der Energie liefert, die unmittelbar zur Arbeitsleistung dient, während die Energie der Sauerstoffatmung, die Beseitigung der Milchsäure durch Rückverwandlung in Kohlehydrat und die damit verbundene Restitution des Alkaliproteins im Muskel bewirkt. Diese Tatsache, daß eine im Muskel in erheblicher Menge vorkommende Substanz eine chemische Reaktion in Zusammenhang mit der Muskelfunktion eingeht, bedeutet einen wesentlichen Fortschritt in der biochemischen Erkenntnis, auch wenn diese Aufklärung nicht unmittelbar dazu führt, dem Chemismus eine bestimmte Rolle für die Muskelaktion zuzuschreiben.

In den letzten Jahren nun ist neben der Kohlehydratspaltung ein anderer mit der Muskeltätigkeit verknüpfter Spaltungsumsatz bekannt geworden, der sich an Umfang mit jener messen kann. Dieser fragliche chemische Vorgang ist an das Kreatin geknüpft, dessen regelmäßiges Vorkommen in den quergestreiften Muskeln der Wirbeltiere in hoher Konzentration etwa 2—3 % der Trockensubstanz längst bekannt war. Nachdem lange versucht war, eine Beteiligung des Kreatins an der Muskeltätigkeit aufzufinden, ist ein solcher Zusammenhang durch die Entdeckung von Fiske und Subbarow (Science 65, 1927) sowie P. und G. P. Eggleton, (Biochem. Journal 21), 1927, hergestellt.

Fiske und Subbarow entdeckten Anfang 1927, daß das Kreatin des Muskels sich in einer unbeständigen, säurelabilen Verbindung mit Phosphat befindet und es gelang ihnen auch, diese zu isolieren. Ferner fanden sie, daß der größte Teil des Kreatins bei der Muskeltätigkeit unter Freiwerden des anorganischen Phosphates abgespalten wird, aber bei der oxydativen Erholung eine neue Synthese eingeht. Ebenso erkannten sie, daß diese säurelabile Phosphatververbindung aequimolekulare Mengen von Phosphat und Kreatin enthält.

Kurz vorher beobachteten bereits Eggleton und Eggleton (Biochemisches J. 21, 1927) diese säurelabile Phosphatverbindung, die bei der Muskeltätigkeit aufgespalten wird und nannten sie „Phosphagen". Sie haben gefunden, daß das Phosphagen von besonderer Bedeutung für die willkürliche Muskulatur zu sein scheint, daß in der glatten Muskulatur, ebenso im Herzmuskel so wenig

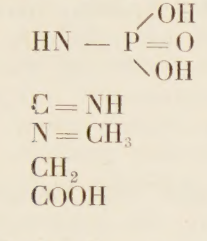
Phosphagen enthalten ist, das mit dem Phosphagengehalt der willkürlichen Muskeln kaum vergleichbar ist und, daß eine Restitution von Phosphagen unter anaeroben Bedingungen nicht stattfindet, aber in Gegenwart von Sauerstoff Phosphagen schnell wieder resynthesiert wird.

Die Feststellungen dieser Forscher stimmen also vollkommen miteinander überein. Die Untersuchungen von O. Meyerhof und K. Lohmann haben ergeben, daß das Phosphagen, das bei allen Klassen der Wirbeltiere vorkommt, identisch ist mit der einmolekularen Kreatinphosphorsäure.

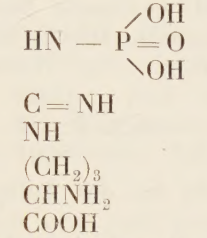
Durch diese Feststellung von Eggleton und Eggleton, daß das Phosphagen nur bei Wirbeltieren vorkommt, und wenn indes diesem Spaltungsvorgang wirklich eine erhebliche Bedeutung für die Tätigkeit des quergestreiften Muskels zukommen sollte, entstand die Frage, ob ein Ersatz und welcher in den analog-arbeitenden willkürlichen Muskeln der wirbellosen Tiere, denen ja das Kreatin fehlt, vorhanden ist. Meyerhof und Lohmann (Biochem. Z. 196, 1928), die sich außer mit dem Umsatz des Phosphagens der Wirbeltiere mit dem entsprechenden Verhalten des Crustaceenmuskels (Krebsschere) beschäftigt haben, haben gefunden, daß ein Phosphagen in ganz derselben Menge und mit ganz ähnlichen Eigenschaften im quergestreiften Muskel der wirbellosen Tiere vorkommt und als Argininphosphorsäure erkannt wurde. Es scheint, daß nach den noch so wenig zur Verfügung stehenden Versuchen die Argininphosphorsäure der Wirbellosen sich bei der Tätigkeit in derselben Weise verhält wie die Kreatinphosphorsäure. Nachdem Versuche mit jodessigsäurevergifteten Froschmuskeln wertvolle Auskunft über die Bedeutung der Kreatinphosphorsäure im Tätigkeitsstoffwechsel der Wirbeltiermuskeln ergeben haben, so war es wünschenswert, derartige Versuche auch mit Muskeln von Wirbellosen auszuführen, um Sicherheit dafür zu gewinnen, daß die Funktion der Kreatinphosphorsäure und der Argininphosphorsäure identisch ist. Versuche dieser Art wurden von Einar Lundsgaard (Biochem. Z. 230, 1931) mit Scheren von Maia spinado durchgeführt.

Dieses Versuchstier bietet den Vorteil, daß die beiden Scheren fast immer symmetrisch sind, ferner ist die längliche Form der Scheren für das Durchspülen, die Aufspannung, sowie die direkte Reizung der Muskeln von Vorteil. Auf die Methodik dieser interessanten Versuche glaube ich, brauche ich nicht näher einzugehen, vielmehr sind die Resultate von Bedeutung. Einar Lundsgaard hat durch diese Versuche gefunden, daß nach Aufhebung der Milchsäurebildung durch Monojodessigsäurevergiftung von Crustaceenmuskel (also wirbellos) sich deren Tätigkeitsumsatz ganz in derselben Weise ändert, wie der Tätigkeitsumsatz von Froschmuskeln, nur, daß statt Kreatinphosphorsäure Argininphosphorsäure der Spaltung unterliegt.

Indem wir die von Eggleton stammende Bezeichnung „Phosphagen" verallgemeinern, unterscheiden wir somit 2 Arten von Phosphagenen, das des Wirbeltiermuskels und das des Crustaceenmuskels. Nachdem das Phosphagen des Wirbeltiermuskels bereits als einmolekulare Kreatinphosphorsäure erkannt war, erwies sich das entsprechende Phosphagen des wirbellosen Muskels als einmolekulare Argininphosphorsäure.



Kreatinphosphorsäure

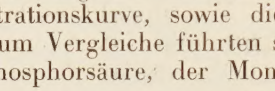


Argininphosphorsäure

In beiden Fällen handelt es sich um einmolekulare Verbindungen, in denen die Phosphorsäure mit einem NH_2 der Guanidingruppe esterartig verknüpft ist, also um Guanidinophosphorsäuren (Meyerhof und Lohmann, Bioch. Z. 196, 1928). Die Argininphosphorsäure wurde in größerer Menge aus Krebsmuskeln isoliert, wo ihr Gehalt mit dem der Kreatinphosphorsäure im Wirbeltiermuskel nahezu übereinstimmt; nämlich $^3/_4$ des scheinbaren anorganischen Phosphates finden sich hier wie dort im ruhenden Muskel in lockerer Bindung mit der Guanidingruppe und nur etwa $^1/_4$ ist freies Phosphat. Eine nähere Durchforschung des Wirbellosentierkreises ergab, daß in allen wirbellosen Tierkreisen die quergestreiften und auch einige sich relativ rasch verkürzende glatte Muskelarten dieselbe Argininphosphorsäure enthalten und zwar immer die gleiche Menge von etwa 70—80 % des direkt zu bestimmenden Phosphates. Jede Art von Phosphagen fehlt dagegen den Tonusmuskeln, den Haltemuskeln der Muscheln, und den Ringmuskeln der Holothurien. Der Acranier Amphioxus, der als Vorstufe der Wirbeltiere aufgefaßt wird, enthält dagegen Kreatinphosphorsäure, aber keine Argininphosphorsäure. Es liegt also hier für die vergleichende Physiologie sehr interessante „Chemische Mutation" vor, wie man aus dem Vergleich der beiden Formeln ersieht und wenn man berücksichtigt, daß das Arginin, ein im allgemeinen auch bei den Wirbeltieren vorkommender Eiweißbaustein ist, das Kreatin aber eine singuläre, zur Hauptsache nur in der Muskulatur vorkommende Substanz ist (O. Meyerhof, Naturwiss. 12, 1929).

Meine Aufgabe soll es nun sein, die Wirkung und die Rolle, die die Phosphagene bei der Muskeltätigkeit spielen, zusammenfassend darzustellen.

Um die Bedeutung dieses Vorganges für die Muskeltätigkeit aufzuklären und um die analoge Konstitution der beiden Phosphagene sicherer zu begründen, ist es notwendig, das physiologische, sowie das chemisch-physikalische Verhalten näher zu studieren. O. Meyerhof und K. Lohmann (Bioch. Z. 196, 1928) haben neben dem Verhalten gegenüber dem Muskelenzyem die Reaktionsverschiebung bei der Aufspaltung durch Bestimmung der Elektrotitrationskurve, sowie die Wärmetönung der Spaltung untersucht. Zum Vergleiche führten sie die Versuche mit der einfachsten Aminophosphorsäure, der Monoaminophosphorsäure von der Formel



durch, die bei der Aufspaltung in Ammoniak und Phosphat zerfällt.

Das physiologische Verhalten der Verbindungen sei anschließend kurz zusammengefaßt.

1) die enzymatische Spaltung der Kreatinphosphorsäure im Muskelextrakt wird in Gegenwart von Kohlehydrat verlangsamt und durch Fluorid gehemmt.

2) das im Crustaceenmuskel vorhandene Phosphagen, die Argininphosphorsäure, verhält sich ganz analog dem Wirbeltierphosphagen, der Kreatinphosphorsäure, wenn es auch hinsichtlich der Säurestabilität sowie in einigen anderen Punkten sich in quantitativer Hinsicht unterscheidet. Es wird bei der Kontraktion des Muskels aufgespalten und bei der Erholung in Sauerstoff wieder restituiert.

   Im Muskelextrakt wird es in ähnlicher Weise enzymatisch gespalten und synthetisiert wie die Kreatinphosphorsäure. Die Synthese ist im allgemeinen größer als bei der Kreatinphosphorsäure.

3) Auch die anorganische Aminophosphorsäure kann vom Muskelextrakt enzymatisch gespalten werden. Auch diese Spaltung wird durch Fluorid gehemmt. Die Wärmetönung dieser enzymatischen Spaltung beträgt pro Molekül 14 000—15 000 cal.

Diese Versuche, die von Meyerhof und Lohmann angestellt worden sind, haben die Versuche Eggletons am Froschmuskel bestätigt.

Das chemisch-physikalische Verhalten der Phosphagene, über das ebenfalls O. Meyerhof und K. Lohmann (Bioch. Z. 196, 1928) Versuche machten, zeitigten folgendes Ergebnis:

1) Für die Konstitution ist von Wichtigkeit, daß die α-Aminogruppe in der ungespaltenen Verbindung frei

ist. Andererseits wird die Argininphosphorsäure von Arginase nicht angegriffen.

2) Die Wärmetönungen der Säurespaltung wurden sowohl für saure Reaktion (W_s) und neutrale (W_n) berechnet. Für Kreatinphosphorsäure ergab sich W_s zu etwa 12 000 bis 13 000 cal. pro Mol, W_n zu 10 000 bis 11 000 cal. pro Mol, für Argininphosphorsäure W_s zu 11 000 bis 12 000 cal., W_n 8000 bis 10 000 cal., für Aminophosphorsäure W_s zu 16 000 cal., W_n zu 15 000 cal.

3) Die Dissozationsverhältnisse der Kreatin- und Argininphosphorsäure ergaben, daß die Dissozationswärmen des Arginins und des Kreatins dafür sprechen, daß beide als Zwitterionen existieren.

Entsprechend der größeren Wichtigkeit und zum genaueren quantitativen Studium des Zerfalls und der Restitution des Phosphagens eignet sich jedoch nur der Umsatz des Wirbeltierphosphagens im Froschmuskel, der Kreatinphosphorsäure. Diese Feststellung des Zerfalls des Phosphagens bei der Tätigkeit des Muskels und die Synthese der Verbindung in der oxydativen Restitution wurden schon von P. und G. P. Eggleton (Bioch. J. 21, 1927) am Froschmuskel und von Fiske und Subbarow (Science 65, 1927) am Säugetiermuskel entdeckt und beschrieben. Sie hatten also nur einen Wiederaufbau der bei der Tätigkeit zerfallenen Verbindung in der oxydativen Erholung des Muskels beobachtet, während, wie wir später sehen werden, O. Meyerhof (Naturwiss. 15, 1927) und D. Nachmansohn (Bioch. Z. 196, 1928), durch genaueres Studium des Zerfallsvorganges gefunden haben, daß es bereits auch eine anaerobe Synthese des Phosphagens gibt, die sich unmittelbar an den Erschlaffungsvorgang anschließt. Diese Feststellung wirft die Frage auf, in welcher Weise diese Reaktionen an dem Arbeitsprozeß beteiligt sind. Während alle sonst bekannten Vorgänge, wie z. B. die Lipoidabspaltung, schon durch ihren geringen relativen Umfang sich als Nebenreaktion gegenüber dem Kohlehydratumsatz dokumentieren, ist dies für den Zerfall des Wirbeltierphosphagens anders. Nach Eggleton (J. of Physiol. 63, 1927) ist am Umfang der Ermüdung und ebenso während der oxydativen Restitution der molekulare Umsatz größer als der der Milchsäure. Es fragt sich nun, ob dieser Prozeß ähnlich wie die Milchsäurebildung mittelbar oder unmittelbar für die Energieleistung bei der Arbeit in Betracht kommt, ob er mit dem Mechanismus der Kontraktion verknüpft ist oder etwa mit dem Erregungsprozeß, ob er eine direkte oder indirekte Rolle in irgendeiner Phase der Muskeltätigkeit spielt.

D. Nachmansohn (Bioch. Z. 196, 1928) hat diese Fragen durch genaues quantitatives Studium zu klären versucht, wobei ihm folgende Punkte als wesentlich erschienen:

1) die Größe des Zerfalls mit der Größe der Arbeitsleistung zu vergleichen.

2) die Größe des Zerfalls in Unabhängigkeit von der Art der Reizung und der Form der Konzentration zu suchen.

3) Den zeitlichen Zusammenhang vom Zerfall und Restitution mit den mech. Vorgängen und dem Umsatz der Milchsäure herzustellen.

Nachmansohn verglich nun zuerst den Phosphagenzerfall mit Milchsäurebildung und der isometrischen Spannung bei Einzelreizung und Tetanus. Dann untersuchte er die anaerobe Resynthese der Phosphagene im Anschluß an die Kontraktion und die Abwesenheit anderer chem. Vorgänge von größerem Umfang im gleichen Zeitraum. Wesentlich für die Versuche war, den Phosphagengehalt des ruhenden Muskels möglichst genau zu kennen. Auf die Methodik dieser Versuche glaube ich, brauche ich nicht näher einzugehen. Nachmansohn hat den Phosphagengehalt in Prozenten des Gesamtphosphates in den symmetrischen Gastrocnemien und Semimembranasi, sowie den Sartorien festgestellt. Er fand, daß die symmetrischen Muskeln derselben Art ausgezeichnet übereinstimmende Werte ergeben, die im äußersten Falle um 3 -4 % abweichen. Durch eine große Anzahl von Versuchen wurde der mittlere Wert des Ruhegehaltes an Phosphagen, sowohl für Sartorien, wie für Gastrocnemien festgestellt. Bei Sartorien ergab sich als Mittelwert des Gesamtphosphat

1,84 mg $P_2 O_5$ pro Gramm,

des Phosphagens 1,42 mg = 77 %.

Durch weitere Versuche ergab sich als Mittelwert an Phosphagengehalt

$74{,}5 \pm 4$ %.

Rolle des Wirbeltierphosphagens im ruhenden Muskel.

Wie schon vorher angeführt, beträgt der Wirbeltierphosphagengehalt $74{,}5 \pm 4$ %. Stärkere Schwankungen dürften entweder auf einen abnormen Zustand des Muskels oder auf unzweckmäßige Verarbeitung zurückzuführen sein. Die Empfindlichkeit des Muskels ist in den verschiedenen Muskeln verschieden. Das Gefrieren schadet bei den Kaltblütermuskeln nichts: im Crustaceenmuskel wird dagegen durch Gefrieren in einer Kältemischung oder in flüssiger Luft ein Teil des Wirbellosenphosphagens, der Argininphosphorsäure

frei. In den glatten Muskeln der Holothurien und des Sipunculus ist die Argininphosphorsäure gegen Schädigungen der Muskulatur unempfindlicher, also in den quergestreiften Muskeln, und wird auch bei der Reizung nur sehr langsam gespalten. Im übrigen bietet die Spaltung des Wirbeltierphosphagens weitgehende Analogien zur Spaltung des Kohlehydrats. Die Verbindung bleibt im isolierten Muskel in Sauerstoff lange erhalten, zerfällt dagegen langsam und kontinuierlich in der Ruheanaerobiose, rascher bei Einwirkung von CO_2, sowie von contrakturerzeugenden Substanzen und am raschesten aerob wie anaerob bei der Kontraktion. Sie wird bei anschließender Restitution in Sauerstoff wieder synthetisiert.

Gegenüber der Milchsäurebildung ergeben sich gewisse quantitative Unterschiede, die die besondere Rolle der Phosphagene weiter aufzuhellen gestatten. Schon bei Ruheanaerobiose sind Milchsäurebildung und Phosphagenzerfall nicht proportional, vielmehr nimmt die Geschwindigkeit des Phosphagenzerfalls nach einem exponentiellen Gesetz ab, je weiter der Zerfall fortgeschritten ist. Besonders groß ist der Unterschied am Anfang, wo die Milchsäurebildung noch keinen konstanten Wert erreicht hat. Bei gleichzeitiger Vergiftung des Muskels mit KCN und ebenso in reiner CO_2-Atmosphäre wird diese Differenz weiter gesteigert, so daß jetzt gut 4mal so viel Phosphagenmoleküle zerfallen sind, als Milchsäure entsteht.

Nach G. und P. G. Eggleton (J. of Physiol. 68, 1928) ist der Gehalt an Wirbeltierphosphagen gleich dem Gehalt an Kreatin. Am größten ist er im weißen Skelettmuskel, geringer in den roten, noch kleiner im Herzmuskel und fast gleich Null in dem glatten Muskel. Nach Eggleton (J. of Physiol. 67, 1929) nimmt das Wirbeltierphosphagen in einem in Sauerstoff freihängenden Sartorius noch allmählich zu bis zu 85 % des direkt bestimmbaren Phosphates (O. Meyerhof: Die chem. Vorgänge im Muskel und ihr Zusammenhang mit Arbeitsleistung und Wärmebildung 1930).

Rolle des Wirbeltierphosphagens bei der Tätigkeit des Muskels.

D. Nachmansohn (Bioch. Z. 196, 1928) hat durch seine Untersuchungen über den Zerfall des Wirbeltierphosphagens beim tätigen Muskel folgendes festgestellt. Er vergleicht zuerst den PH.-Zerfall mit der Milchsäurebildung und Spannung unter verschiedenen Umständen und findet, daß sowohl bei Einzelzuckungen, wie bei Dauerkontraktionen (Tetani) die gebildete Milchsäure der vom Muskel entwickelten isometrischen Spannung bzw. beim Tetanus dem Produkt aus Spannung und Reizdauer genau proportional ist. Die Art der Reizung ist also vollkommen gleich. Ferner gilt der Ver-

gleich nur für dieselbe Muskelart, wobei die Spannung noch mit der Länge des Muskels zu multiplizieren ist. Der Phosphagenzerfall ist bei direkter und indirekter Reizung gleich, dagegen in dem kuraisierten Muskel stark vermindert. Der isometrische Koeffizient der Milchsäure für Einzelzuckungen

$$K_m = \frac{\text{g. Spannung} \times \text{cm Muskellänge}}{\text{mg Milchsäure}}$$

und ebenso der Zeitkoeffizient für Dauerkontraktionen

$$K_z = \frac{\text{g. Spannung} \times \text{cm Muskellänge}}{\text{mg Milchsäure}}$$

sind konstant.

Das Verhältnis

$$\frac{\text{mg } H_3PO_4 \text{ abgespalten}}{\text{mg Milchsäure gebildet}}$$

ist für die beiden ersten Tetani von 5 Sekunden etwa = 2, sinkt dann aber für die nächsten Tetani stark ab. Die Bedeutung dieser Spaltung des W.Ph. bei der Tätigkeit des Muskels gewinnt nun besonders an Wert durch die Beobachtung und Feststellung von D. Nachmansohn (Bioch. Z. 196, 1928), daß durch die Vergiftung des Muskels mit Curare, das die Erregbarkeit vom Nerven aus aufhebt, die direkte Erregbarkeit des Muskels aber nicht verändert, der Zerfall des Phosphagens außerordentlich herabgesetzt wird. So ist also bei Vergiftung mit Curare das Verhältnis

$$\frac{\text{mg } H_3PO_4 \text{ abgespalten}}{\text{mg Milchsäure gebildet}}$$

für den ersten Tetanus etwa nur noch = 0,8. Der isometrische Koeffizient des Phosphagens steigt entsprechend dem stark abnehmenden Phosphagenzerfall in nicht curarisierten Muskeln stark an, ist dagegen in curaresierten Muskeln bis zu etwa 100 kg Spannung pro Gramm Muskel nahezu konstant.

D. Nachmansohn fand ferner, daß außer der von G. und P. G. Eggleton (Bioch. J. 21, 1927) bereits beschriebenen aeroben Resynthese des Phosphagens nach der Reizung des Froschmuskels, es auch in unmittelbarem Anschluß an die Erschlaffung eine anaerobe Synthese gibt, die sich in etwa 20 Sekunden vollzogen hat. Es werden in dieser Zeit im Durchschnitt etwa 30 % des zerfallenen Phosphagens restituiert. Daß die Synthese absolut nicht an das Vorhandensein von Sauerstoffspuren gebunden ist, geht nicht nur aus ihrem Fortbestehen in strengster Anaerobiose hervor, sondern vor allem daraus, daß sie auch nach 6 Tetani sehr deutlich ist, wo ja unbedingt die Sauerstoffspuren verbraucht sein müßten. Die Synthese hört ungefähr vom 10ten Tetanus an auf; es ist aber dann die Spaltung schon so stark gesunken und wird auch wäh-

rend einer Reizzeit von 5 Sekunden nicht mehr aufrecht erhalten. Weiter beobachtete er, daß während der anaeroben Restitution des Phosphagens keine Milchsäure gebildet wird, und daß während dieser Zeit kein NH_4OH verschwindet. Entsprechend der Angaben von Parnas ist die Ammoniakbildung der Arbeitsleistung proportional, also ist sie auch bei curaresierten und nichtcuraresierten Muskeln gleich und demnach von dem Zerfall der Kreatinphosphorsäure unabhängig. Während die Milchsäurebildung im Muskel als energieliefernder Vorgang mit der Spannungsleistung weitgehend parallel läuft, zeigt der Zerfall des W.Ph. keinen derartigen Parallelismus. Dies geht zum Teil aus schon angeführten Tatsachen hervor. Der isometrische Koeffizient für Einzelzuckung ist hier das Verhältnis

$$K_m = \frac{\text{Kg gesamte Spannung} \times \text{cm Muskellänge}}{\text{mg } H_3PO_3 \text{ abgespalten}}$$

und steigt sehr rasch mit der Hubzahl. Mit zunehmender Spannungsleistung nimmt daher die pro Zuckung zerfallende Menge schnell ab. Entsprechend steigt auch der isometrische Zeitkoeffizient.

$$K_z = \frac{\text{Kg Spannung} \times \text{cm Muskellänge} \times \text{Sek. Tetanusdauer}}{\text{mg } H_3PO_4 \text{ abgespalten}}$$

für Dauerkontraktion. Vor allem aber zeigte die Curaresierung des Muskels, daß trotz gleichbleibender Spannungsleistung eine weitgehende Einschränkung erzielt werden kann, ganz im Gegensatz zum Verhalten der Milchsäure unter gleichen Bedingungen. Diese Tatsache, insbesondere die Curarewirkung ließen bereits darauf schließen, daß der Phosphagenzerfall nicht so sehr von der Größe der Arbeitsleistung, als vielmehr von anderen den Erregungsvorgang oder den Kontraktionsverlauf betreffenden Umständen abhängig ist. D. Nachmansohn (Bioch. Z. 208, 1929) hat nun untersucht, in welcher Weise der Ph.-Zerfall mit Dauer und Art der Reizung, mit Vorbehandlung durch verschiedene Gifte, mit dem Zustand des Muskels, der Erregbarkeit der Temperatur und der Kontraktionsform zusammenhängt.

A. Rolle des Wirbeltierphosphagens in normalem Muskel.

Auf Grund bereits erwähnter Tatsachen war vorauszusehen, daß der Zeitkoeffizient bei kürzerer Dauer des Tetanus abnimmt, bei längerer Dauer des Tetanus zunimmt. Die Untersuchungen von D. Nachmansohn (Bioch. Z. 208, 29) haben in der Tat ergeben, daß der Zeitkoeffizient, der bei einem Tetanus von 5 Sek. Dauer im Durchschnitt 32 beträgt, bei einem Tetanus von 2 Sek. Dauer auf 15 sinkt, dagegen bei einem Tetanus von 10 Sek. auf 50

steigt. Das bedeutet also, daß bei einem Tetanus von 2 Sek. der Phosphagenzerfall im Verhältnis zur geleisteten Arbeit etwa das Doppelte, bei einem Tetanus von 10 Sek. fast nur noch die Hälfte von dem bei 5 Sek. beträgt. Daß der verhältnismäßig starke Zerfall bei einem kurzen Tetanus nicht nur die Folge eines hohen Anfangsgehaltes ist, geht aus der Tatsache hervor, daß der Zerfall für mehrere kurze Tetani bei gleicher Gesamtleistung größer ist, als für einen entsprechend langen Tetanus. K_z-Werte sind bei einem langen Tetanus größer. Es ist daher anzunehmen, daß die Spannungsentwicklung mit einem stärkeren Phosphagenzerfall verknüpft ist, als die Aufrechterhaltung der Spannung. Dafür spricht auch die Tatsache, daß der K_z-Wert für den ersten 2 Sek.-Tetanus auch dann sehr klein ist, wenn der Anfangsgehalt durch eine strenge mehrstündige Anaerobiose vermindert ist. Die Berechnung der K_m- und K_z-Werte geschieht durch den Vergleich des Phosphagengehaltes vor dem Tetanus mit demjenigen 30 Sek. nachher. Nach O. Meyerhof und K. Lohmann (Naturwiss. 15. H. 32, 1927) wird ein Teil des Phosphagens bereits unmittelbar im Anschluß an die Erschlaffung anaerob resynthetisiert. Die anaerobe Resynthese des Phosphagens ist normalerweise ungefähr der zerfallenen Menge proportional. Bemerkenswert ist, daß die anaerobe Resynthese auch dann noch stattfindet, wenn infolge Ueberreizung eine Nachkontraktur zustande kommt, während in diesem Falle die Milchsäurebildung weitergeht.

B. Verhalten des Wirbeltierphosphagens im curaresierten Muskel.

Worauf schon früher hingewiesen wurde, wird der Zerfall durch Vergiftung des Muskels mit Curare außerordentlich eingeschränkt. Während die K_z-Werte des normalen Muskels mit der Dauer und der Zahl der Tetani ganz große Unterschiede aufweisen, ist dies beim curaresierten Muskel nicht der Fall, vielmehr findet man hier nur geringfügige Schwankungen. Die K_z-Werte sowohl bei einem, wie bei mehreren Tetani von 5 Sek.-Dauer entsprechen der Hälfte bis zu einem Drittel des Zerfalls von normalen Muskeln bei gleicher Reizdauer. Die Feststellung, daß nach Aufhebung der indirekten Erregtheit, der Ph.-Zerfall abnimmt, hat ein neues Licht auf die Bedeutung des Zerfalls des Wirbeltierphosphagens geworfen. Genau so, ja zum Teil noch stärker, wirken andere curaresierende Substanzen. Es sind dies die quaternären Ammoniumsalze und vor allem Trimethyloctylammoniumjodid, das im ruhenden Muskel keine Kontrakturen erzeugt, in der Ruhe den Phosphagengehalt unverändert läßt und die Arbeitsleistung bei intravitaler Ein-

verleibung nicht beeinträchtigt. Spritzt man die Lösung dem Tier in den Lymphsack und entnimmt den Muskel unmittelbar nach Erlöschen der indirekten Erregbarkeit, so ist der Zerfall bereits bedeutend eingeschränkt und wartet man noch 1—2 Stunden länger bis zum Versuch, so ist besonders bei hohen Dosen die Einschränkung des Zerfalls bei der Reizung noch größer, so daß bei gleicher Spannungsleistung und Milchsäurebildung nunmehr höchstens $^1/_{10}$ so viel zerfällt als normal, wobei „Zerfall" die Differenz des Gehaltes vor und nach der Tätigkeit bedeutet, jedoch auch jetzt bei den verschiedenen Arten der Curaresierung ist stets während der Kontraktion bedeutend mehr W.Ph. gespalten, so daß der Betrag der Resynthese nahezu gleich geblieben ist. Bei den curaresierten Muskeln wird aber die zerfallene Menge nach der Erschlaffung fast vollständig wieder resynthesiert, während bei normalen Muskeln der Zerfall bei aufeinanderfolgenden Tetani enorm absinkt, ist hier eher das Umgekehrte der Fall. Es scheint also zunächst, daß die Aufhebung der direkten Erregbarkeit selbst für die Einschränkung des Phosphagenzerfalls verantwortlich wäre. Im allgemeinen lassen sich die Muskelfasern nicht direkt reizen, ohne gleichzeitig die an sie herantretenden Nervenendigungen mit zu erregen, und da diese erregbarer sind, ist die direkte Reizung in Wirklichkeit eine indirekte über die Nervenendigungen. Es ist daher nicht verwunderlich, daß bei dieser scheinbaren direkten Reizung der Phosphagenzerfall ebenso groß ist, wie bei der Erregung von Nerven aus. Dagegen kann man den Einfluß des Nervensystems ausschalten, wenn man die Nerven dem lebenden Tiere durchschneidet und degenerieren läßt, was im Kaltblüter etwa 3—4 Wochen dauert.

Das Verhalten des Muskels mit degenerierten Nerven stimmt nun vollständig mit dem curaresierten überein: Bei unveränderter Größe und Spannung sowohl bei Einzelzuckungen wie bei Dauerkontraktionen eine außerordentliche Einschränkung des Phosphagenzerfalls. Auch hier setzt diese Einschränkung ein, wenn der Nerv ganz unerregbar geworden ist, wird aber mit der Zeit noch immer vollständiger (D. Nachmansohn, Bioch. Z. 213, 1929).

C. Zusammenhang des Wirbeltierphosphagenzerfalls mit der Erregungsgeschwindigkeit bzw. „Chronaxie".

Die Abhängigkeit der Zerfallsgröße von der indirekten Erregbarkeit ist jedoch nicht das letzte Ergebnis der Analyse. Will man den oben genannten Zusammenhang deuten, so muß man die Theorie der Curarewirkung berücksichtigen. Während die Mehrzahl der Physiologen die Wirkung der curaresierenden Substanzen auf die Lähmung eines zwischen dem Nerven und Muskel gelegenen hypo-

thetischen Gebildes zurückführen, vertritt der französische Physiologe Lapique die Ansicht, daß die Curarelähmung auf einer Verschiebung des „Zeitwertes" des Erregungsvorganges im Nerven und Muskel beruht.

Ein elektrischer Gleichstrom muß, um zur Erregung zu führen, um so länger dauern, je schwächer er ist; doch hat diese Beziehung eine Grenze, die abhängig von der Schnelligkeit ist, mit der ein erregbares Gebilde zu reagieren vermag. Je rascher die Reaktion des Organes ist, eine um so kürzere Zeit des Stromflusses kann noch zur Erregung führen. Nach Lapique kann man für jedes erregbare Organ einen „Zeitwert" finden, „Chronaxie" genannt, die in Sekunden zu messen ist und die Geschwindigkeit charakterisiert, mit der ein Organ auf den Reiz reaktiert. Die Kürze der Chronaxie im Muskel entspricht im allgemeinen der anschaulicheren Größe der Kontraktionsgeschwindigkeit. Die Curarewirkung beruht nach Lapique auf einer Störung des Isochronismus von Nerv und Muskel. Das Curare verlängert den „Zeitwert" des Muskels, ohne den des Nerven zu verändern; infolgedessen dauert der vom Nerv kommende Impuls nunmehr nicht lange genug, um den Muskel erregen zu können. Die echt curaresierenden Substanzen, wie die Ammoniumbasen und das Spartein (Alkaloid), wirken genau wie Curare dadurch, daß sie die Chronaxie des Muskels verlängern; das Strychnin, mit dem man in bestimmter Konzentration auch eine Curarewirkung erhält, wirkt dadurch, daß es den Muskel verkürzt, aber die Chronaxie des Nerven unverändert läßt. Ebenso, wie der durch Curare gelähmte Muskel, zeigt auch der mit degenerierten Nerven eine starke Verlängerung der Chronaxie, was dem Kliniker durch die Entartungsreaktion des Muskels bekannt ist, seiner völligen Unerregbarkeit gegen Induktionsströme bei erhaltener Erregung durch den konstanten Strom.

Es besteht jedoch bei der Curaresierung kein Zusammenhang zwischen Erregungs- und Kontraktionsdauer, denn letztere ist selbst bei 5–10facher Chronaxie kaum verlängert. D. Nachmansohn (Bioch. Z. 213, 1929) hat nun die 3 letztgenannten Substanzen in ihrer Wirkung auf den Phosphagenzerfall im Vergleich zur Spannungsreaktion, also die K_m- und die K_z-Werte, geprüft, und hat folgendes gefunden:

Spartein hemmt den Zerfall genau wie Curare und die Ammoniumbasen; Strychnin läßt ihn unverändert, Veratrin steigert ihn und zwar so stark, daß der K_m- und K_z-Wert nur halb so groß ist als wie normal. Es steht also fest, daß der Phosphagenzerfall in fester Beziehung steht zur Chronaxie des Muskels, d. h. zur Geschwindigkeit der Reizbeantwortung. Wenn die Hypothese richtig ist, daß die Größe des Zerfalls des Wirbeltierphosphagens parallel der Geschwindigkeit geht, mit der ein Muskel reagiert, so muß der

Zerfall offenbar auch auf andere Weise als durch Ausschaltung der Nervenerregung beeinflußbar sein, nämlich durch alle diejenigen Faktoren, die die Geschwindigkeit verändern. Nach D. Nachmansohn trifft diese Forderung bei allen bis jetzt gemachten Untersuchungen zu und er stellte folgendes fest:

Zunächst geht nicht nur die Geschwindigkeit der Kontraktion, sondern auch die in der Chronaxie gemessene Reaktion schon mit der Ermüdung des Muskels stark herab und die Einschränkung des Zerfalls hierbei ist bereits angegeben worden. Ferner verringert sich die Geschwindigkeit mit der Erniedrigung der Temperatur. Während nun die für die Theorie der Muskelarbeit wichtige Beziehung besteht, daß das Verhältnis von Spannung und Milchsäurebildung bei Einzelreizen, der K_m-Wert, von der Temperatur unabhängig ist, trotz starker Beschleunigung der Kontraktion mit zunehmender Temperatur, ist der Zerfall des W.Ph., bezogen auf gleiche Spannungsleistung, bei 25° etwa doppelt so groß wie bei 5°.

Die Geschwindigkeit des Erregungsvorganges läuft also irgendwie mit der Größe des Zerfalls des W.Ph. zusammen, und wird, wie man annehmen kann, dadurch bedingt. Die curaresierenden Gifte und ebenso die Nervendegeneration würden auf den Muskel dadurch wirken, daß sie den Zerfall einschränken. Die Kontraktionsgeschwindigkeit im engeren Sinne ist dagegen von der Zerfallsgröße unabhängig. Näheres hierüber kann man vorläufig noch nicht angeben. Wahrscheinlich sind die Phosphagene im Muskel nicht frei vorhanden, sondern in höheren Komplexen gebunden, und diese Bildung wird erst bei der Säureextraktion oder sonst bei der Denaturierung der Proteine zerstört. Dies folgt (neben anderem) aus den verschiedenen Reaktionswärmen der isolierten Verbindung und der genuinen Phosphate. Nicht nur im lebenden Muskel, sondern auch in dem enzymhaltigen, kann man unter geeigneten Umständen sowohl eine Spaltung als auch eine Synthese der Phosphagene herbeiführen.

Bei neutraler oder ganz schwachsaurer Reaktion werden die Phosphagene enzymatisch gespalten; bei schwach alkalischer Reaktion dagegen aus den Spaltprodukten synthetisiert (O. Meyerhof und K. Lohmann, Bioch. Z. 196, 1928). Bei dieser Spaltung und Synthese gelingt es nicht, besondere Reaktionswärmen, die hierauf zu beziehen wären, zu messen. Anders aber mit abgetrennten Verbindungen. Werden die rein dargestellten Phosphagene enzymatisch oder durch verdünnte Säuren bei 20° hydrolysiert, so tritt beidemale die nicht unerhebliche Wärmetönung auf. Für W.Ph. beträgt die Wärme der Säurespaltung etwa 12 000 cal. pro Mol. Für Wirbellosen-Phosphagene etwa 10 000 cal. pro Mol. Bei der enzymatischen Spaltung erhält man ungefähr dieselben Resultate. Die

gleichen Wärmen der Säurespaltung treten aber auch auf, wenn man die Phosphagene gar nicht isoliert, sondern die Spaltung unmittelbar mit dem Säureextrakt des Muskels vornimmt. Wird der Versuch nun so eingerichtet, daß man zunächst das präformierte W.Ph. enzymatisch aufspaltet, dann durch Alkalisierung im enzymhaltigen Extrakt neu synthetisiert und sie schließlich im eiweißfreien Säurefiltrat gewinnt, so gibt die enzymatisch, ohne erkennbare Abkühlung, synthetische Verbindung bei der Spaltung der Säure wieder 12 000 cal. pro Mol. Dies läßt sich nur so erklären, daß die genuinen Verbindungen im Muskel und im eiweißhaltigen Muskelextrakt sich bei der Spaltung und der Synthese anders verhalten, wie die im Säureextrakt abgeschiedenen. Ebensowenig treten im lebenden Muskel die hier zu erwartenden Wärmetönungen auf. Ganz ähnlich steht es mit dem abgespaltenen Phosphat.

Vorläufig müssen wir uns mit der Feststellung begnügen, daß der Umfang des Phosphagenzerfalls in fester Beziehung steht zur Geschwindigkeit des Erregungsvorganges, und erst einen tiefen Einblick in den Umsatz der Phosphagenkomplexe in vivo zu gewinnen versuchen, ehe wir an eine Deutung dieses Zusammenhanges herantreten können.

Die Spaltung des W.Ph. ist ein so eigentümlicher Vorgang, daß sein genaues Studium unsere Vorstellung über den feineren Chemismus der Kontraktion weitgehend umgestalten könnte. Daß 2 voneinander ganz unabhängige Prozesse zusammen die Energie für den so einheitlich und rasch ablaufenden Verkürzungsvorgang des Muskels liefern sollten, erscheint nicht sehr wahrscheinlich, aber ihre Unabhängigkeit voneinander, könnte auf verschiedene Weise möglich sein. So könnte zwar die Spaltung der Kreatinphosphorsäure zunächst die Milchsäurebildung auslösen, aber der primäre Phosphagenzerfall dabei viel größer sein, als selbst im Moment der tetanischen Kontraktion in Erscheinung tritt, indem in jedem Augenblick die Milchsäurebildung die Energie für die Resynthese liefert. Würde die Energie der Glykogenspaltung nur mittels der Resynthese des Phosphagens auf die mech. Arbeitsleistung übertragen, so könnte die anaerobe Resynthese nach Ablauf der Kontraktion so gedeutet werden, daß die endotherme Kondensation von Phosphorsäure und Kreatin zwar schon im Moment der Erschlaffung vor sich geht, daß aber zunächst eine noch unbeständigere Form von W.Ph. entsteht, die sich erst innerhalb 20 Sekunden so stabilisiert, daß sie analytisch nachgewiesen werden kann. In diesem Falle wäre der Zusammenhang mit der Erregung wohl eher zu deuten, daß die kontinuierliche anaerobe Resynthese während der Zuckung bzw. des Tetanus bei erhöhter Erregungsgeschwindigkeit unvollständiger wird. Die vorher erörterte Verknüpfung beider Spaltungsvorgänge ist indessen ebenso wahrscheinlich.

Zusammenfassung.

Neben der anaeroben Spaltung der Kohlehydrate in Milchsäure bei Muskeltätigkeit gibt es noch eine zweite chemische Reaktion bei Muskeltätigkeit, nämlich die Spaltung der Phosphagene.

Man unterscheidet nun 2 Arten von Phosphagenen:

1) Das Wirbeltierphosphagen, das der Kreatinphosphorsäure entspricht und

2) das Wirbellosenphosphagen, das der Argininphosphorsäure entspricht.

Zum genaueren quantitativen Studium des Zerfalls und der Restitution des Phosphagens wurde nur die Kreatinphosphorsäure benützt und wurde dabei folgendes festgestellt:

1) Die K_z-Werte des normalen Muskels weisen mit der Dauer und der Zahl der Tetani große Unterschiede auf, während

2) dies beim curaresierten Muskel nicht der Fall ist, sondern nur geringfügige Schwankungen aufweisen, die man auch auf technische Schwierigkeiten zurückführen kann. Ferner wurde gefunden, daß bei unveränderter Größe und Spannung, sowohl bei Einzelzuckungen wie bei Dauerkontraktionen eine a. o. Einschränkung des Phosphagenzerfalls eintritt.

3) Es steht der Umfang des Phosphagenzerfalls in fester Beziehung zur Geschwindigkeit des Erregungsvorganges. Ein tieferer Einblick in den Umsatz der Phosphagenkomplexe ist indes noch nicht möglich.

Zum Schluß obliegt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Hahn meinen verbindlichsten Dank auszusprechen für die freundliche Ueberlassung des Themas.

Lebenslauf und Bildungsgang

Ich bin geboren am 22. Dezember 1908 in Klein-Eislingen als Sohn des Glasermeisters Christian Ehmann. Nach 4jährigem Besuch der Volksschule zu Klein-Eislingen trat ich in die Oberrealschule in Göppingen ein. Im Frühjahr 1927 bestand ich an derselben Anstalt die Reifeprüfung. Zwei Semester studierte ich in Tübingen und sechs Semester in München. Dort bestand ich im Frühjahr 1929 die zahnärztliche Vorprüfung und im W.S. 1930/31 das zahnärztliche Staatsexamen.